

正交试验优选姜椒凝胶的处方工艺

蔡兴东^{1*}, 王金凤¹, 刘新²

(1. 重庆三峡医药高等专科学校, 重庆 404120; 2. 重庆医科大学药学院, 重庆 400016)

[摘要] 目的: 优选姜椒凝胶剂的处方工艺并探讨其体外经皮渗透性。方法: 以辣椒素 24 h 单位面积累积渗透量为评价指标, 通过 $L_9(3^4)$ 正交试验考察甘油、丙二醇、氮酮用量对姜椒凝胶处方工艺的影响; 以大鼠离体皮肤为屏障, 运用 Franz 扩散池作为体外经皮释药模型, 考察姜椒凝胶的体外透皮特性。采用 HPLC 测定辣椒素含量, 色谱条件为 Diamonsil C_{18} 色谱柱 (4.6 mm × 250 mm, 5 μ m), 流动相甲醇-0.1% 磷酸水 (65:35), 流速 1.0 mL·min⁻¹, 检测波长 280 nm, 柱温 40 $^{\circ}$ C, 进样量 20 μ L。结果: 姜椒凝胶处方的最佳组合为 2% 卡波姆, 10% 甘油, 20% 丙二醇和 1% 氮酮; 其体外经皮渗透符合零级动力学方程, 经皮渗透速率 0.353 μ g·h⁻¹·cm⁻²。结论: 该处方设计合理, 适宜皮肤局部用药。

[关键词] 姜椒凝胶; 辣椒素; 经皮渗透; 正交试验; 处方工艺; 单位面积累积渗透量

[中图分类号] R283.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1005-9903(2013)23-0028-04

[doi] 10.11653/syfy2013230028

Optimization of Formulation Process for Jiangjiao Gels by Orthogonal Test

CAI Xing-dong^{1*}, WANG Jin-feng¹, LIU Xin²

(1. Chongqing Three Gorges Medical College, Chongqing 404120, China;

2. College of Pharmacy, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

[Abstract] **Objective:** To optimize formulation of Jiangjiao gels and investigate its *in vitro* percutaneous penetration. **Method:** Taking cumulative permeation amount per unit area in 24 h of capsaicin as index, effect of dosages of glycerol, propylene glycol and azone on formulation process of capsaicin was investigated by orthogonal test; With isolated rat skin as transdermal barrier, Franz diffusion cell was used as *in vitro* percutaneous release model, then *in vitro* transdermal permeability of capsaicin was investigated. The content of capsaicin was

[收稿日期] 20130506(001)

[基金项目] 重庆市教委自然科学基金项目(KJ121801)

[通讯作者] * 蔡兴东, 硕士, 讲师, 从事中药制剂及中药资源开发研究, Tel:023-58556899, E-mail:2001cxd@163.com

[3] 李智欣, 杨中平, 石宝霞, 等. 夜交藤中改善睡眠成分的研究[J]. 食品科学, 2007, 28(4): 327.

[4] 张冬青, 汪德清. 黄芪总黄酮生物学活性作用研究进展[J]. 中国中药杂志, 2010, 35(2): 253.

[5] 戴成国, 王纪平, 肖扬, 等. 首乌藤黄酮的体内抗氧化作用研究[J]. 陕西师范大学学报: 自然科学版, 2011, 39(4): 75.

[6] 张寒娟, 李晓坤, 杨云, 等. 首乌藤多糖体内及体外抗氧化活性研究[J]. 中国医院药学杂志, 2010, 30(8): 668.

[7] LIU J S, YANG J G, HONG Y, et al. Inhibitory effects of *Polygoni Multiflori Caulis* extracts on matrix metalloproteinase activities[J]. Chem Res Chinese U, 2009, 25(2): 211.

[8] 宋毅, 唐尧, 张志勇, 等. 夜交藤抗炎抑菌作用的实验研究[J]. 华西药学杂志, 2003, 18(2): 112.

[9] 黄树莲, 陈学芬, 陈晓军. 首乌藤降血脂作用的实验研究[J]. 中草药, 1991, 22(3): 117.

[10] 杨金华, 王登斌, 陈小明. 首乌藤中大黄素的提取工艺研究[J]. 中草药, 2011, 42(10): 2017.

[11] 李小芳, 蒋蔚, 黄毅, 等. 浅谈微波萃取技术与被提取中药的关系[J]. 中成药, 2007, 29(5): 757.

[责任编辑 全燕]

determined by HPLC, chromatographic conditions were as follows: Diamonsil C₁₈ column (4.6 mm × 250 mm, 5 μm), mobile phase of methanol-0.1% phosphoric acid solution (65:35), flow rate 1.0 mL · min⁻¹, detection wavelength 280 nm, column temperature 40 °C, injection volume 20 μL. **Result:** Optimal formulation of Jiangjiao gels was 2% carbomer, 10% glycerol, 20% propylene glycol and 1% azone; *In vitro* transdermal permeation of capsaicin in Jiangjiao gels fitted zero order kinetics equation, percutaneous permeation rate was 0.353 μg · h⁻¹ · cm⁻². **Conclusion:** Optimized formulation was reasonable and suitable for topical skin.

[**Key words**] Jiangjiao gels; capsaicin; percutaneous penetration; orthogonal test; formulation process; cumulative permeation amount per unit area

中药凝胶剂是近几年发展起来的新型中药外用制剂,具有涂展性好、无油腻感、易于清洗、透皮吸收好等特点^[1]。姜椒凝胶处方来源于临床经验方,由辣椒、干姜等药味组成,主要用于促进毛发再生和防治冻疮。本实验以处方中辣椒的活性成分辣椒素体外经皮累积渗透量为主要评价指标,通过正交试验优选姜椒凝胶的处方工艺,并对制备的凝胶剂进行体外经皮渗透性考察,为姜椒凝胶的进一步开发和临床应用提供实验依据。

1 材料

LC-2010A 型高效液相色谱仪(Class-VP 型色谱工作站,日本岛津),RYJ-6A 型药物透皮扩散试验仪(上海黄海药检仪器有限公司),MILLI-Q BIOCEL 型超纯水机(法国密理博公司),AL204 型 1/万电子分析天平(瑞士梅特勒-托利多公司)。

辣椒素对照品(中国食品药品检定研究院,批号 110839-200403),卡波姆 940(药用级,北京鑫洲科技有限公司),氮酮(福建寿宁美菲思生物化学制品厂),聚乙二醇(PEG400)、甘油、丙二醇、三乙醇胺(重庆川东化工集团公司),甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

SD 大鼠,雄性,体重(200 ± 20) g,由重庆医科大学实验动物中心提供,动物合格证号 SCXK(渝)2007-0001。

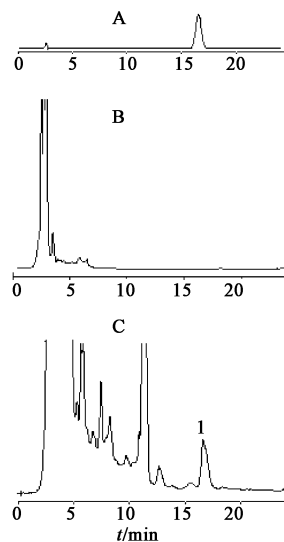
2 方法与结果

2.1 辣椒素的含量测定

2.1.1 色谱条件^[2] Diamonsil C₁₈ 色谱柱(4.6 mm × 250 mm, 5 μm),流动相甲醇-0.1% 磷酸水(65:35),流速 1.0 mL · min⁻¹,检测波长 280 nm,柱温 40 °C,进样量 20 μL,见图 1。

2.1.2 对照品溶液的配制 精密称定辣椒素对照品 10.02 mg,置于 100 mL 量瓶中,加甲醇溶解并定容至刻度,混匀,即得 0.100 2 g · L⁻¹ 对照品储备液。

2.1.3 离体鼠皮的制备^[3] 取大鼠处死,用剪刀仔细剪去腹部皮肤上的毛,并将皮肤剥离,用刀片仔



A. 对照品; B. 空白透皮液; C. 供试品; 1. 辣椒素

图 1 姜椒凝胶 HPLC

细去除皮下脂肪及筋膜后洗净,置于生理盐水中 -20 °C 保存,备用。

2.1.4 供试品溶液的制备 取处理好的无损伤的大鼠皮肤,角质层向上,固定在透皮仪的 Franz 扩散池上,在角质层一面均匀涂上姜椒凝胶约 2 g,有效扩散面积 2.54 cm²,在接受池中加入含 20% PEG400 的生理盐水 7 mL 作为接受液。将扩散池置透皮扩散试验仪(37 ± 1) °C 恒温循环水浴中,搅拌速度 300 r · min⁻¹,在规定时间点取样 1 mL,并补充等温度同体积含 20% PEG400 的生理盐水,所取样品用 0.45 μm 微孔滤膜滤过,即得。

2.1.5 阴性对照溶液的制备 取不含药物的空白凝胶基质,按 2.1.4 项下方法操作制备阴性对照溶液。

2.1.6 标准曲线的绘制 精密吸取对照品储备溶液 35, 50, 250, 500, 1 000, 2 500 μL,分别置于 10 mL 量瓶中,加甲醇至刻度,摇匀,得系列对照品溶液,按 2.1.1 项下色谱条件进样分析,以质量浓度为横坐标,峰面积积分值为纵坐标,得回归方程 $Y =$

13 504.9X - 818.7 ($r = 0.9997$), 表明辣椒素进样质量浓度在 $0.35 \sim 25 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 与峰面积积分值呈良好线性关系。

2.1.7 精密密度试验 取 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 对照品溶液适量, 连续进样 5 次, 结果精密度的 RSD 1.06%, 表明仪器精密密度良好。

2.1.8 回收率试验 精密量取辣椒素对照品溶液 ($0.1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) 适量, 加入空白透皮液, 配置成 4.0, 5.0, 6.0 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 共 3 个质量浓度的溶液, 每个质量浓度平行制备 3 份, 按 2.1.1 项下色谱条件进样分析, 计算平均回收率 98.5%, RSD 1.15%。

2.2 姜椒凝胶的制备 取卡波姆 2 g, 加甘油研匀, 加入适量纯化水, 充分溶胀后, 加入相对密度 1.10 ($50 \text{ }^\circ\text{C}$) 的药材乙醇提取浸膏及丙二醇、氮酮等, 研匀, 加三乙醇胺调 pH 6 ~ 6.5, 加纯化水至 100 g, 继续搅拌均匀, 即得。

2.3 姜椒凝胶的处方筛选 在预试验基础上, 选取甘油、丙二醇、氮酮用量为考察因素, 以辣椒素 24 h 单位面积累积渗透量为评价指标, 采用 $L_9(3^4)$ 正交设计优化姜椒凝胶处方, 因素水平见表 1, 试验安排及结果见表 2。按以下公式计算单位面积累积渗透量^[4-7]。

$$Q_n = [C_n \times V_0 + \sum_{i=1}^{n-1} C_i \times V] / S$$

其中, Q_n 第 n 次取样时单位面积累积渗透量, C_n 为第 n 次取样时接受液中质量浓度, C_i 为第 i 次取样时接受液中质量浓度, V_0 为扩散池体积, V 为取样体积, S 为扩散面积。

由直观分析可知, 各因素对姜椒凝胶剂中辣椒素经皮渗透性影响的顺序依次为 $C > B > A$, 即因素 C 是影响姜椒凝胶中辣椒素经皮渗透的主要因素, 其次因素 B , 而因素 A 对姜椒凝胶经皮渗透性影响最小, 确定最佳处方组合为 $A_1B_2C_1$, 即卡波姆、甘油、丙二醇及氮酮的用量分别为 2%, 10%, 20%, 1%。

2.4 体外经皮渗透性考察 参照 2.2 项下方法, 按

表 1 姜椒凝胶处方工艺正交试验因素水平

| 水平 | A 甘油/% | B 丙二醇/% | C 氮酮/% |
|----|--------|---------|--------|
| 1 | 10 | 10 | 1 |
| 2 | 20 | 20 | 2 |
| 3 | 30 | 30 | 3 |

表 2 姜椒凝胶处方工艺正交试验安排

| No. | A | B | C | D(空白) | 辣椒素单位面积累积渗透量/ $\mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$ |
|-------|-------|-------|-------|-------|--|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 5.79 |
| 2 | 1 | 2 | 2 | 2 | 4.69 |
| 3 | 1 | 3 | 3 | 3 | 2.76 |
| 4 | 2 | 1 | 2 | 3 | 3.58 |
| 5 | 2 | 2 | 3 | 1 | 3.31 |
| 6 | 2 | 3 | 1 | 2 | 5.79 |
| 7 | 3 | 1 | 3 | 2 | 1.97 |
| 8 | 3 | 2 | 1 | 3 | 6.98 |
| 9 | 3 | 3 | 2 | 1 | 3.86 |
| K_1 | 4.413 | 3.763 | 6.187 | 4.320 | |
| K_2 | 4.227 | 4.993 | 4.043 | 4.133 | |
| K_3 | 4.253 | 4.137 | 2.663 | 4.440 | |
| R | 0.186 | 1.230 | 3.524 | 0.307 | |

优化的处方制备 3 批姜椒凝胶, 按 2.1.4 项下方法分别于 2, 4, 6, 8, 10, 12, 24 h 取样并制备成供试品溶液, 测定辣椒素体外单位面积经皮累积渗透量, 结果 3 批样品 24 h 单位面积经皮累积渗透量分别为 $8.09, 8.32, 7.66 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-2}$, 分别作体外经皮渗透曲线, 并对曲线进行线性拟合, 结果见表 3。

由表 3 可知, 制备的姜椒凝胶体外经皮渗透性试验重复性良好, 姜椒凝胶中辣椒素体外经皮渗透符合零级动力学方程, 且线性关系良好 ($r > 0.99$); 3 批次样品的平均透皮速率 $0.353 \mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$, 体外经皮渗透速率无显著差异, 说明优选的处方较为合理。

表 3 不同批次姜椒凝胶剂的体外透皮渗透回归方程及透皮速率 ($n = 3$)

| 批号 | 拟合模型 | 回归方程 | r | 透皮速率/ $\mu\text{g} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{cm}^{-2}$ |
|----|------------|----------------------------|-------|--|
| 1 | 零级动力学方程 | $Q = 0.354t - 0.329$ | 0.999 | 0.354 |
| | Higuchi 方程 | $Q = 0.088t^{1/2} - 0.807$ | 0.988 | |
| 2 | 零级动力学方程 | $Q = 0.368t - 0.3703$ | 0.997 | 0.368 |
| | Higuchi 方程 | $Q = 0.091t^{1/2} - 0.809$ | 0.974 | |
| 3 | 零级动力学方程 | $Q = 0.338t - 0.5223$ | 0.998 | 0.338 |
| | Higuchi 方程 | $Q = 0.087t^{1/2} - 0.734$ | 0.991 | |

3 讨论

中药凝胶的基质材料根据其性能不同,可分为水性凝胶基质与油性凝胶基质。水性凝胶基质由于黏滞度较小而有利于药物释放,且无油腻性,易涂布,因而临床应用较多。卡波姆是水溶性基质,无油腻感,涂用舒适,被广泛用做凝胶基质。由于药材提取物具有亲脂性,为了使药物与凝胶基质能够相容,处方中加入了丙二醇和甘油等,以使得药物能均匀分布于凝胶基质中。

氮酮是一种优良的促渗剂,其最佳浓度与药物物理化学性质及所用的介质有关。同时,丙二醇也有一定促渗透作用,二者合用时,丙二醇可提高氮酮的促渗透作用^[8]。另据文献报道氮酮与丙二醇合用对辣椒素的经皮吸收具有促进作用^[9]。本实验将丙二醇与氮酮均作为姜椒凝胶体外经皮渗透的主要影响因素进行考察,按优选处方制备的凝胶剂稠度适中、均匀、细腻,透皮吸收良好。

现代研究表明姜椒凝胶处方中辣椒素所含辣椒素类物质能扩张局部血管、促进微循环^[10],与该制剂适应症相符,故选取辣椒素体外经皮累积渗透量作为评价指标对方剂工艺进行优选。辣椒素属于脂溶性化合物,不溶于冷水,为满足试验的漏槽条件,体外透皮试验时应在透皮接受液中加入20% PEG400以增加其溶解度,结果表明辣椒素透皮过程符合零级模型,可初步预测其在局部给药治疗中能持续稳定地发挥疗效,为姜椒凝胶的进一步开发和临床应

用提供借鉴。

[参考文献]

- [1] 王金凤,蔡兴东. 中药凝胶剂研究近况[J]. 中国当代医药, 2011, 18(2): 14.
- [2] 蔡兴东,刘新. 高效液相色谱法测定生发凝胶中辣椒素含量[J]. 中国医院药学杂志, 2007, 27(4): 494.
- [3] 苏玉珂. 紫草软膏处方筛选及其体外渗透性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(21): 36.
- [4] 罗红梅,马云淑,黄金娥,等. 丁香挥发油对磷酸川芎嗪贴剂的经皮促渗作用[J]. 中国实验方剂学杂志, 2012, 18(11): 40.
- [5] 邹玉繁,张健泓,汪小根. 双指数方程拟合广藿香酮巴布剂体外透皮特性的研究[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(3): 1.
- [6] 刘容飞,谢燕,袁秀荣. 风灵凝胶中秋水碱的体外透皮特性[J]. 中国实验方剂学杂志, 2011, 17(11): 22.
- [7] 王雷,王学艳,周雪琴,等. 黄芩苷凝胶设计与体外透皮性能的研究[J]. 中草药, 2008, 39(10): 1502.
- [8] 陆彬. 药物新剂型与新技术[M]. 北京:人民卫生出版社, 2002: 365.
- [9] 张鹏威,张莉,徐贵华,等. 促渗剂对辣椒碱经皮渗透的影响[J]. 海南医学院学报, 2010, 16(8): 964.
- [10] Ferrell W R, Wong B B, Lockhart J C, et al. Gender differences in regional cutaneous microcirculatory responses to capsaicin[J]. Fund Clin Pharmacol, 2004, 18(2): 195.

[责任编辑 全燕]

欢迎订阅 2014 年度《中国实验方剂学杂志》

《中国实验方剂学杂志》由国家中医药管理局主管,中国中医科学院中药研究所和中国中西医结合学会中药专业委员会主办的学术刊物,已成为“中国中文核心期刊”;“中国学术期刊综合评价数据库来源”期刊、“中国期刊网、中国学术期刊光盘版”全文收录期刊、美国《化学文摘》统计源期刊;并被评为“中国中医药优秀期刊”及“中国学术期刊优秀期刊”。本刊创刊于1995年10月,本着提高为主,提高与普及相结合的办刊方针,主要设置:工艺与制剂、化学与分析、资源与鉴定、药物代谢、药理、毒理、临床、综述、学术交流、信息等栏目,交流方剂的药效学、毒理学、药物动力学、药物化学、制剂学、质量标准、配伍研究、临床研究、学术专论以及方剂主要组成药物的研究结果与最新进展。本刊的读者对象是从事中西医药,尤其是方剂教学、科研、医疗、生产的高、中级工作者,以及中医药院校的高年级学生等。

本刊现为半月刊,16开本,192页,标准刊号:ISSN1005-9903;CN11-3495/R。每期定价35元,全年840元。国内外公开发行,国内由北京市报刊发行局办理总发行,邮发代号:2-417;国外由中国国际图书贸易总公司办理发行,代号:SM4655。欢迎订阅。本刊编辑部也办理邮购。地址:北京市东直门内南小街16号,《中国实验方剂学杂志》编辑部,邮编:100700,联系电话:(010)84076882,电子邮件:syfjx_2010@188.com,网址:www.syfjxzz.com。